

Aus dem Physiologischen Institut der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. med. Otto H. Gauer

**ÜBER DIE FUNKTION DER MOTORISCHEN ENDPLATTE UNTER
DEM EINFLUSS VON MENSCHLICHEM NORMALSERUM**

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Rainer Sandweg
aus Wuppertal-Elberfeld

1969

Aus dem Physiologischen Institut der Freien Universität Berlin

Direktor: Professor Dr. med. Otto H. Gauer

ÜBER DIE FUNKTION DER MOTORISCHEN ENDPLATTE UNTER
DEM EINFLUSS VON MENSCHLICHEM NORMALSERUM

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an der

Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Rainer Sandweg

aus Wuppertal-Elberfeld

Dekan: Professor Dr. med. Hans Heinz Naumann

Referent: Professor Dr. med. O. H. Gauer

Korreferent: Professor Dr. med. H.J. Grüsser



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Freien Universität Berlin.

Promoviert am: 28. August 1969

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung.....	1
2. Methodik.....	4
3. Ergebnisse.....	8
3.1. Abschätzung der freien Ionen in Serum	8
3.2. Einfluß der freien Ionen auf die neuromuskuläre Übertragung.....	8
3.3. Modellvorstellungen über die ACh- Freisetzung.....	9
3.4. Die postsynaptische Empfindlichkeit	11
3.5. Die Spontanfreisetzungsrates.....	12
3.6. Ableitung von EPP am blockierten Muskel.....	12
3.6.1 Präsynaptische Blockierung.....	13
3.6.2 Postsynaptische Blockierung.....	15
4. Diskussion.....	19



Digitized by the Internet Archive
in 2026

1. Einleitung

Zur Erforschung der neuromuskulären Übertragung führten FATT und KATZ (11) im Jahre 1951 die Methode der intrazellulären Ableitung ein, die sich in den folgenden Jahren als außerordentlich wertvoll bei der Aufklärung der synaptischen Vorgänge an der motorischen Nervenendigung erwies. So stellten del CASTILLO und KATZ (18) 1954 auf Grund statistischer Analysen von intrazellulär abgeleiteten Endplattenpotentialen (EPP) und Miniaturendplattenpotentialen (MEPP) die Theorie der quantalen Freisetzung von Acetylcholin (ACh) auf. Nach dieser Theorie setzt ein Nervenaktionspotential eine bestimmte Anzahl von Acetylcholinquanten frei. Jedem Quantum entspricht wahrscheinlich eines der in großer Zahl in der motorischen Nervenendigung elektro-nenoptisch nachweisbaren Vesikel. (56) Die Zahl der pro Nervenaktionspotential freigesetzten Quanten ist nicht konstant, sondern abhängig von dem extrazellulären Ionenmilieu und den vorangegangenen Aktionspotentialen. Die statistische Analyse der Quantenzahl führte zu Modellvorstellungen über die funktionelle Organisation der motorischen Nervenendigung hinsichtlich der ACh-Synthese, - Speicherung und - Freisetzung (16, 22, 23, 24, 25, 26, 29).

Die bisherigen Kenntnisse der Erregungsübertragung an der motorischen Nervenendigung sind an Nerv-Muskelpräparaten gewonnen worden, die in einer Blutersatzlösung funktionsfähig erhalten wurden (22). Da Blut bzw. Serum und Blutersatzlösung in ihrer chemischen Zusammensetzung nicht völlig identisch sind, erhebt sich die Frage, ob im Blut noch weitere Substanzen vorhanden sind, die hemmend oder fördernd auf die neuromuskuläre Übertragung einwirken. Diese Frage erscheint deshalb wichtig, weil bei der Myasthenia gravis pseudoparalytica - einer

Erkrankung, bei der eine Störung der neuromuskulären Übertragung im Vordergrund steht - ein Serumfaktor als Pathogenetisch bedeutsam angenommen wird, dessen Wirkung auf versuchstiere übertragbar sein soll. (1-4, 6, 7, 10) Die Existenz eines solchen Serumfaktors ist jedoch von manchen Autoren angezweifelt worden (5, 8, 9). Diese Widersprüche in der Literatur dürften im wesentlichen methodisch bedingt sein, denn die herkömmlichen pharmakologischen Methoden zur Prüfung der Wirkung einer Substanz auf die neuromuskuläre Übertragung - etwa die Kontraktionsmessung durch ein Dynamometer (4), isometrische Kontraktionsmessung am Nerv-Muskelpräparat (5), extra-corporale (EMG) und extrazelluläre Ableitung von Muskelaktionspotentialen (10) - sind als Meßgrößen für die neuromuskuläre Übertragung zu wenig genau, weil außer der rein synaptischen Funktion noch weitere Teilfunktionen der Muskeltätigkeit in die Messung eingehen. Solche nichtsynaptischen Funktionen können mit der intrazellulären Ableitung ausgeschaltet werden, so daß es möglich wird, die neuromuskuläre Übertragung direkt zu untersuchen und die ACh-Freisetzung quantitativ zu messen. Darüber hinaus wird es mit der Methode der intrazellulären Ableitung möglich, Teilfunktionen der synaptischen Übertragung zu untersuchen, wie etwa die postsynaptische Empfindlichkeit gegenüber ACh und die Synthese, Speicherung und Freisetzung der Transmittersubstanz.

In der vorliegenden Arbeit soll mit Hilfe der intrazellulären Ableitung und unter Berücksichtigung der Modellvorstellungen über die neuromuskuläre Übertragung der Einfluß von Serum auf die Funktion der motorischen Nervenendigung untersucht werden. Dabei steht die Frage im Vordergrund, ob die allgemein bei Nerv-Muskelpräparationen verwendete Blutersatzlösung tatsächlich eine den

physiologischen Verhältnissen angepaßte Lösung darstellt. Zugleich sollen die methodischen Voraussetzungen erarbeitet werden, um den Einfluß pathologischer Seren- etwa bei der Myasthenie- auf Teilfunktionen der neuromuskulären Übertragung zu untersuchen.

2. METHODIK

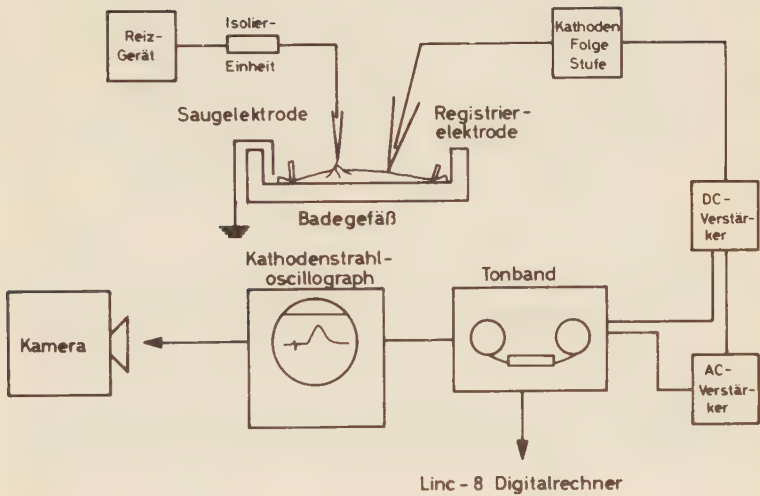
Ein Nerv-Muskel-Präparat wurde in menschliches Normalserum und in Ringer-Vergleichslösung gebracht. Von diesem Präparat wurden Membranruhepotential (RP), EPP und MEPP - Amplituden intrazellulär abgeleitet. Als Präparat wurde ein ca. 1 cm breiter Zwerchfellstreifen mit zugehörigem N. phrenicus von jungen syrischen Goldhamstern gewählt. (Alter: 3 Monate; Gewicht: 60 - 70 g). Das Präparat wurde nach intraperitonealer Urethan/Chloralose-Narkose entnommen und in ein mit Ringer-Lösung gefülltes Badgefäß aus Plexiglas gebracht. (Abb. 1) Die Befestigung des Präparates erfolgte mit Hilfe von Igelstacheln an der Rippe und dem Centrum tendineum des Zwerchfellstreifens. Das Fassungsvermögen des Badgefäßes betrug 2 - 3 ml, eine Zu- und Ableitung für die Badflüssigkeit ermöglichte einen Austausch der Flüssigkeit innerhalb weniger Sekunden. Während des ganzen Versuches wurde die Badflüssigkeit mit einem Carbogengemisch ($O_2/CO_2 = 95/5$) durchperlt. Das Badgefäß war von einem Mantelgefäß umgeben, in dem die Temperatur vermittels eines Thermostaten konstant gehalten wurde. Die Registrierung erfolgte frühestens 10 Minuten nach dem vorangegangenen Wechsel der Badflüssigkeit.

Der N. phrenicus wurde über eine Saugelektrode mit einem Rechteckimpuls gereizt (Reizgerät Fa. GRASS). Die Reizdauer betrug 0,1 - 0,2 msec, die Reizstärke 2 - 6 V und die Reizfrequenz 0,2 - 100 pro sec. Um das Reizartefakt möglichst klein zu halten, wurde die Reizelektrode über eine Isoliereinheit erdfrei angeschlossen.

Zur Ableitung wurden LING - GERARD - Elektroden benutzt, die mit 1,5 M Kalium-Citrat-Lösung gefüllt waren. Der Spitzendurchmesser der Elektroden war kleiner als 0,5 mü.

A B B I L D U N G 1

VERSUCHSANORDNUNG



Schematische Darstellung der Versuchsanordnung.
 Weitere Einzelheiten s. Text

Sie wurden mit Hilfe eines Polarisationsmikroskopes (Fa. ZEISS) in die Muskelfaser eingestochen, wobei ein Mikromanipulator benutzt wurde. Der Spitzenwiderstand der Elektroden lag zwischen 5 - 20 M Ohm. Das Membranruhepotential wurde nach Impedanzwandlung über eine Kathodenfolgestufe gleichstromverstärkt (GRASS P 6 DC-Preamplifier), auf einem Analogspeicher (ABÜ DORSCH) festgehalten, und auf einem Kathodenstrahloszillographen (TECTRONIX 502) sichtbar gemacht. Die Messung der Potentiale erfolgte praktisch elektrometrisch, da der Eingangswiderstand der ersten Röhre ca. 10 M Ohm betrug und der Gitterstrom auf 10^{-12} Amp abgeglichen wurde. Die obere Grenzfrequenz lag im Bereich von 1000 Hz bei einem Elektrodenwiderstand von 20 M Ohm, der Rauschpegel betrug zwischen 20 und 100 μ V. Für die Registrierung der EPP und MEPP wurde das Membranpotential zusätzlich wechselstromverstärkt und auf einem zweiten Kanal des Analogspeichers festgehalten.

Zum Teil wurden die Potentiale vom Kathodenstrahloszillographen auf Film registriert und dann von Hand ausgewertet, zum Teil erfolgte die Datenaufnahme (Amplitudenmessung) und Datenverarbeitung (Berechnung der Quantenzahlen) durch einen Linc - 8 Digitalrechner (KRUCKENBERG und BÄUER im Druck).

Die Blutersatzlösung - im Folgenden kurz "Ringers-Lösung" genannt - wurde nach den Analysen des Serumultrafiltrates hergestellt. Im Mittel ergaben sich folgende Werte:

Na^+ : 144,9 mM; Cl^- : 124,5 mM; K^+ : 5,18 mM; Phosphat: 1,18 mM; Ca^{++} : 1,20 mM; Cholin: $4,8 \cdot 10^{-5}$ g/ml; Glukose: 100 mg%; Mg^{++} : 0,60 mM.

Da die Konzentration von K^+ , Mg^{++} und Ca^{++} verändert wurde, erfolgte die Korrektur der Osmolarität durch NaCl. Die präsynaptische Blockierung der neuromuskulären

Übertragung erfolgte durch Erhöhung der Mg^{++} - Konzentration in der Badflüssigkeit auf ca. 6,0 - 8,0 mM, die postsynaptische Blockierung wurde erreicht durch $2 - 4 \cdot 10^{-6}$ g/ml d-Tubocurarin (Fa. ASTA).

Serum wurde von gesunden Versuchspersonen im Alter zwischen 20 - 30 Jahren gewonnen und 10 Minuten mit einem Carbogengemisch (95/5) durchperlt. Zur Bestimmung der freien Ionen im Serum wurde dieses ultrafiltriert. Dabei wurde die von TORIBARA et al. (12) angegebene Methode modifiziert: statt der dort angegebenen Zentrifugation wurde ein Überdruck-Filtergerät der DEUTSCHEN MEMBRAN FILTERGESELLSCHAFT benutzt (D. Mf. G. Göttingen Nr. 70 - 15 Filter Lsg 60). Der mittlere Porendurchmesser des angegebenen Filters ist kleiner als 5 μ . Das bedeutet, daß Moleküle mit einem Molekulargewicht über 10 000 das Filter nicht passieren.

Magnesium und Curare wurden zur neuromuskulären Blockierung vor der Ultrafiltration dem Serum zugefügt. Nach der Filtration erfolgte die Bestimmung der freien Ca^{++} - und Mg^{++} - Ionen komplexospectrometrisch nach der Methode von WALSER (13). K^{+} und Na^{+} wurden flammenphotometrisch bestimmt. Die Vergleichslösung wurde als dem Ultrafiltrat äquivalant angesehen, wenn die Abweichung unter 5% betrug.

Die Curare-Konzentration in der Ringer-Lösung wurde stufenweise erhöht, bis die an einer Faser abgeleiteten EPP in Ringer und Ultrafiltrat gleich hoch waren. Die Curare-Konzentration im Ultrafiltrat erreichte ungefähr 50% der Menge, die dem Serum zugegeben worden war.

In allen Experimenten wurden Temperatur, pH und Osmolarität konstant gehalten. Der pH wurde vor und

nach jeder Versuchsreihe gemessen, die Osmolarität wurde mit einem Dampfdruckosmometer bestimmt.

Bei der Auswertung der Versuchsergebnisse ergab sich häufig die Aufgabe, aus einer Anzahl von Potentials die mittlere Quantenzahl des einzelnen Potentials zu errechnen. Die mittlere Quantenzahl m wurde errechnet:

$$1.) \quad m = \frac{\text{EPP-Amplitude}}{\text{MEPP-Amplitude}}$$

2. nach der Poisson-Verteilung:

$$a.) \quad \frac{N}{N_x} = e^{-m} \cdot \frac{m^x}{x!}$$

für $x = 0$:

$$\frac{N}{N_0} = e^{-m}$$

$$m = \ln \frac{N_0}{N}$$

N = Zahl der gesamten Potentiale

N_x = Zahl der Potentiale mit x Quanten

m = mittlere Quantenzahl

$$b.) \quad m = \frac{1}{CV^2}$$

CV = Variationskoeffizient.

In jedem Experiment wurden die Mittelwerte der Amplituden in Ringer-Lösung mit den Mittelwerten in Serum bzw. dessen Ultrafiltrat verglichen. Eine Versuchsserie ergab eine Reihe von Wertepaaren, deren statistischer Vergleich mit dem WILCOXON -Test für Paardifferenzen durchgeführt wurde. Für die Signifikanzgrenzen wurde $2\alpha \leq 0,10$ gefordert.

3. ERGEBNISSE

3.1 Bestimmung der freien Ionen im Serum:

Vor jedem Versuch wurde in Ultrafiltrat von Normalserum und Ringer-Lösung der Gehalt an freien K^+ , Ca^{++} und Mg^{++} -Ionen bestimmt. Na^+ wurde in einigen Versuchen bestimmt. Der Mittelwert der Ca^{++} - und Mg^{++} Konzentrationen im Serum betrug bei 25 Bestimmungen:

Ca^{++} : 1,26 mM, $s = \pm 0,148$ (1,18 mM)

Mg^{++} : 0,78 mM, $s = \pm 0,098$ (0,55 mM)

Die Werte in Klammern stellen die Ergebnisse von WALSER dar (13).

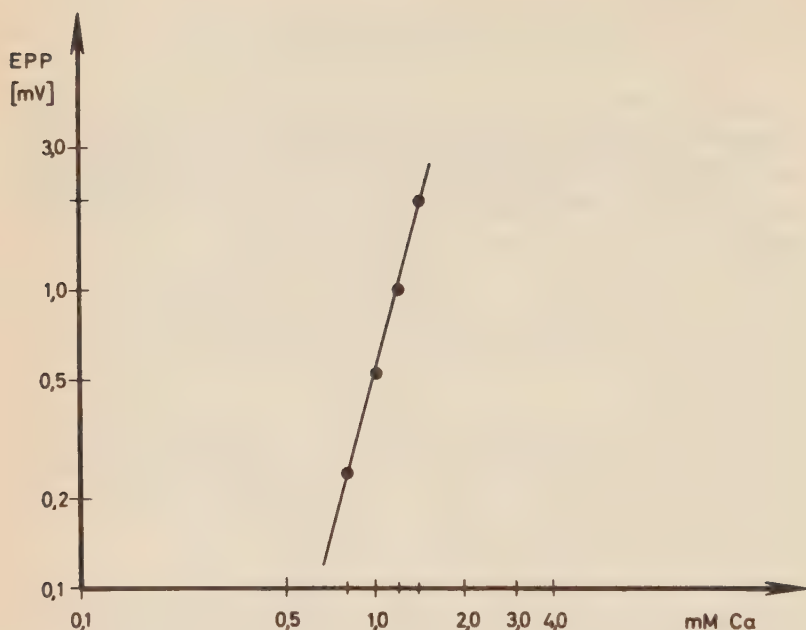
Die Bestimmungen der K -Ionen im Ultrafiltrat ergaben Werte zwischen 3,75 und 5,90 mVal. In diesem Bereich ist für den Warmblütermuskel ein Einfluß auf die Spontanrate nicht zu erwarten (15).

Aus Abschnitt 2. geht hervor, daß die maximale Abweichung der Elektrolytbestimmung in einer Meßreihe bei 5% lag. Bevor der Einfluß von Serum untersucht wird, muß zunächst bekannt sein, wie stark sich geringe Änderungen des Elektrolytgehaltes im Außenmedium auf die Funktion der motorischen Endplatte auswirken.

3.2

Den stärksten Einfluß hat im präsynaptischen Block die Veränderung des extrazellulären Ca^{++} - Gehaltes (48). Abb. 2 zeigt das Ergebnis von sechs Vorversuchen, in denen bei konstanten Bedingungen die Ca-Konzentration im Außenmedium geändert wurde. Aus der Abbildung ist ersichtlich, daß schon eine geringe Ca-Konzentrationsänderung eine erhebliche Amplitudenänderung hervorruft.

A B B I L D U N G 2



Anderung der EPP-Amplitude in Abhängigkeit von der Ca^{++} -Konzentration im Außenmilieu. Abszisse: Ca^{++} -Konzentration in mM, Ordinate: EPP-Amplitude in mV. Beachte das doppelt logarithmische Raster. (Präsynaptischer block, Mg^{++} : 7,0 mM) Die Steigung der Kurve ist 4. RAHAMIMOFF et al. (47) fanden für den Froschmuskel ebenfalls eine Kurve mit der Steigung 4. Sie deuteten den Befund dahingehend, daß ACh-Freisetzung und extrazelluläre Ca^{++} -Konzentration in der 4. Potenz voneinander abhängen. Es erscheint interessant, daß diese Beziehung für zwei derart unterschiedliche Muskelarten wie Warmblüter- und Kaltblütermuskel die gleiche ist.

Die ermittelten Versuchsergebnisse stimmen gut mit den Ergebnissen von RAHAMINOFF am Frosch-Sartorius überein (47,20). Die doppelt logarithmische Aufzeichnung ergibt eine Gerade mit der Steigung 4, das bedeutet, die Amplitude ist proportional der 4. Potenz der Calcium-Konzentration. Für den Wert $Ca = 1,0 \text{ mM}$ zeigt Abb. 2 eine Erhöhung der EPP-Amplitude um 20%, wenn die Ca^{++} -Konzentration um 5% steigt. Das bedeutet, daß Veränderungen der Amplitude um 25% im präsynaptischen Block allein durch Schwankungen der Ca-Konzentration hervorgerufen werden können, die im Bereich der Meßungenauigkeit der Methode liegen.

In zwei Versuchen wurde der Einfluß von Mg^{++} -Konzentrationsänderungen bei konstantem Ca^{++} -Gehalt getestet. Eine Konzentrationsänderung von Mg^{++} um 5% bewirkt lediglich eine Amplitudenänderung von 2%.

In zwei weiteren Versuchen wurde der Einfluß von K^{+} -Konzentrationsänderungen auf die Frequenz der mEPP im Bereich von 4 - 16 mVal bestimmt: eine meßbare Erhöhung der Spontanrate trat erst ab 9 mVal auf. Im Bereich der Serumkonzentration von Kalium ist also kein Einfluß von K auf die Spontanfreisetzung zu erwarten. Diese Ergebnisse sind im Einklang mit den Befunden von LILEY (15).

3.3

Um die folgenden versuchsbedingungen zu verdeutlichen, soll kurz auf die Modellvorstellungen eingegangen werden, die sich in der neueren Literatur über die Freisetzung von ACh an der motorischen Nervenendigung finden:

Den Vorstellungen von LILEY & NORTH (23) über die Erregungsübertragung an der motorischen Endplatte und von

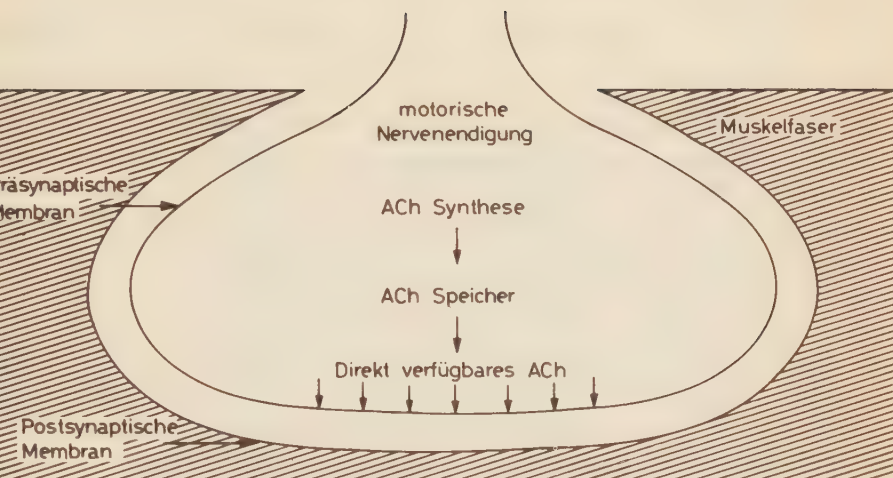
BIRKS & Mc INTOSH (22) über die Funktion der sympathischen Ganglien folgend haben mehrere Autoren quantitative Angaben über die ACh-Freisetzung an der motorischen Nervenendigung und Teilmodelle zur Deutung der beobachteten Phänomene vorgeschlagen. (16, 29, 23, 22, 24, 25, 26) :

Acetylcholin (ACh) wird in oder in der Nähe der motorischen Endplatte synthetisiert. Es wird in Quanten vermutlich in den submikroskopisch sichtbaren Vesikeln der motorischen Endplatte gespeichert. (56.) Es erleichtert die kinetische Betrachtung, wenn man sich vorstellt, daß ACh-Quanten in einem großen Speicher gespeichert werden, der mit einem kleineren Reservoir an direkt verfügbarem ACh in Verbindung steht. Das Reservoir dürfte unmittelbar an der Innenseite der präsynaptischen Membran liegen. ELMQUIST und QUADEL (16) haben aus Versuchen an menschlichen Interkostalmuskeln berechnet, daß der Speicher ca. 20.000 Quanten und das Reservoir ca. 300 - 1.000 Quanten faßt. Die Gesamtmenge des in der Nervenendigung befindlichen ACh soll zur Bildung von ca. 200.000 Quanten ausreichen. Durch ein Nervenaktionspotential wird eine bestimmte Anzahl von ACh-Quanten (100-200) aus dem Reservoir an direkt verfügbarem ACh freigesetzt, die an der postsynaptischen Membran eine Depolarisation, i.e. ein EPP, hervorrufen. Bei frequenter Reizung ändert sich die EPP-Amplitude in charakteristischer Weise in Abhängigkeit von den jeweiligen Versuchsbedingungen.

Wenn das Reservoir an verfügbarem ACh V Quanten enthält und die Freisetzung durch ein Nervenaktionspotential mit einer Wahrscheinlichkeit p erfolgt, so ergibt sich für die mittlere freigesetzte Menge Q :

$$Q = p \cdot V$$

Störungen der Erregungsübertragung können demzufolge verschiedene Teilfunktionen der motorischen Endplatte betreffen: (Abb. 3)



Schema der motorischen Endplatte. ACh = Acetylcholin
(Erklärung im Text)

1. die Empfindlichkeit der postsynaptischen Membran gegenüber ACh,
2. den Freisetzungsmechanismus für ACh,
3. die Nachlieferung von ACh in das Reservoir,
4. die Entleerung des Speichers und Nachlieferung durch Synthese.

3.4

Die Amplitude der MEPP ist unabhängig von den Elektrolytveränderungen in der Größenordnung wie sie in der vorliegenden Arbeit vorkommen (27). Nach den heutigen Vorstellungen stellt das MEPP den Depolarisationseffekt eines Einzelquants dar (18,27). Die einem Einzelquant entsprechende Menge an ACh kann durch eine kompetitive Hemmung der Acetylase mit Hemicholinium reduziert werden (51). Eine Reduzierung der in einem Einzelquant vorhandenen ACh-Menge besteht vermutlich bei der Myasthenia gravis (2, 50). Weitere präsynaptische Einflüsse auf die MEPP- Höhe sind bisher nicht bekannt geworden (27, 28,29,30). Damit stellt das MEPP unter vergleichbaren Arbeitsbedingungen und unter der Voraussetzung, daß keine Synthesestörung vorliegt, einen natürlichen Testreiz für die Empfindlichkeit der postsynaptischen Membran gegenüber ACh dar. Daß die MEPP -Höhe als Test sehr empfindlich ist, zeigt schon die Tatsache, daß Curare-Konzentrationen von 10^{-7} g/ml eine deutliche Reduktion der MEPP-Amplitude bewirken, während diese Konzentrationen auf die neuromuskuläre Übertragung noch keine Wirkung haben. (KRUCKENBERG unveröffentlicht). In 13 Fasern wurde die Amplitude der MEPP in Ringer-Lösung, Ultrafiltrat und Serum gemessen. Der WILCOXON-Test für Paardifferenzen ergab keinen signifikanten Unterschied. In Tabelle 1 sind die Amplituden der MEPP in Ringer, Serum und Ultrafiltrat aufgezeichnet.

TABELLE 1

Faser Nr.	Ringer	Ultrafiltrat	Serum
3	0,75	1,18	
5	0,20	0,33	
6	0,32	0,30	
7	0,72	0,68	
8	0,57	0,63	
9	0,26	0,21	
10	0,60		0,77
11	0,79	0,68	1,20
12	0,33	0,34	0,28
13	0,25		0,28
16	0,16	0,15	
17	0,15	0,20	
18	0,43	0,42	
19	0,34	0,32	
M	0,42	0,45	0,63
m	$\pm 0,019$	$\pm 0,027$	

M = Mittelwert , m = mittlerer Fehler des Mittelwertes

Die Tabelle zeigt die MEPP-Amplituden (gemessen in mV) für Ringer-Lösung , Ultrafiltrat und Serum.

3.5

Die Frequenz der MEPP kann u.a. durch folgende Veränderungen erhöht werden:

1. Depolarisation durch einen Katelektrotonus (31),
2. Depolarisation durch Erhöhung der K^+ -Konzentration im Außenmedium, dabei sinkt gleichzeitig das postsynaptische Membranpotential.
3. Frequente Reizung; in der Phase der posttetanischen Potenzierung kommt es gleichzeitig zu einer Hyperpolarisation der präsynaptischen Membran und zu einer Steigerung der Spontanfreisetzung von ACh (40).

Es fand sich im Serum und Ultrafiltrat in 10 von 13 Fasern eine Erhöhung der Spontanfreisetzungsrates von ca. 50% im Vergleich zu Ringer. In den übrigen Fasern war die Spontanfreisetzungsrates in Serum und Ultrafiltrat geringer.

3.6

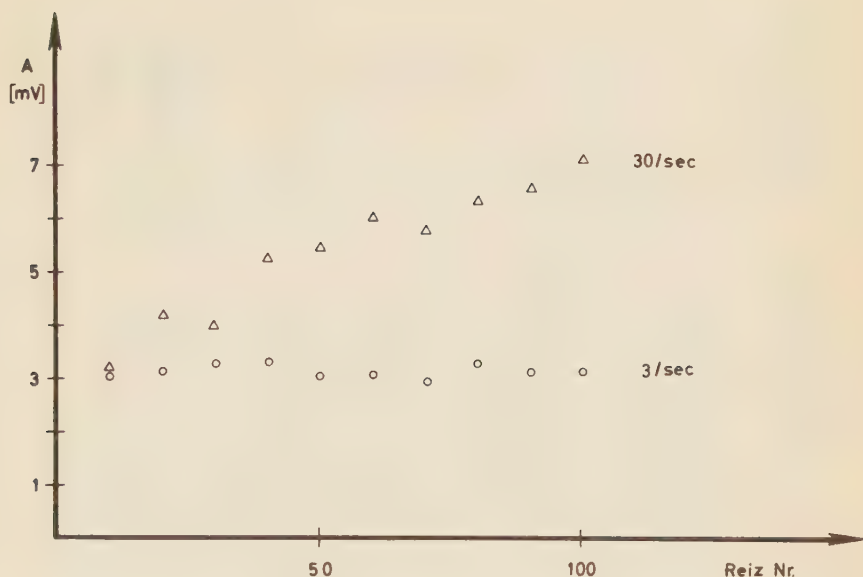
Zur Ableitung von EPP muß die neuromuskuläre Übertragung blockiert werden. Dazu gibt es im wesentlichen zwei Möglichkeiten:

1. die Verminderung der pro Nervenaktionspotential freigesetzten Anzahl von ACh-Quanten und
2. die Herabsetzung der postsynaptischen Empfindlichkeit für ACh.

Im ersten Fall erreicht man die Blockierung durch Erhöhung der Magnesium-Konzentration im Außenmedium oder die Herabsetzung der Calcium-Konzentration. Es soll dann vereinfachend von einem präsynaptischen Block gesprochen werden. (20b, 33, 34, 35, 36)

Im zweiten Fall kann die postsynaptische Empfindlichkeit durch kompetitive Hemmung am Rezeptor, etwa durch

ABBILDUNG 4



Änderung der ACh -Freisetzung im Magnesium-Block (7mM) bei verschiedener Reizfrequenz. Ca^{++} -Konzentration 1,2 mM. Abszisse: Nummer des Reizes. Ordinate: Amplitude in mV. Jeder Punkt stellt den Mittelwert von 10 Potentialen dar. Die EPP-Amplitude und damit die ACh-Freisetzung steigt bei 30/sec. deutlich an (tetanische Potenzierung). D.h. die Freisetzungswahrscheinlichkeit ist bei 30/sec. erhöht.

ABBILDUNG 5



m = mittlerer Fehler des Mittelwertes

Die ACh-Freisetzung unter dem Einfluß von Serum-Ultrafiltrat. Ordinate: Amplitude in mV. Abszisse: Zeit in Minuten. Jede große Säule stellt den Mittelwert von 1.080 Potentialen dar. Die kleinen Säulen stellen den Mittelwert der MEPP dar, die zwischen den EPP registriert wurde (5-30).

In diesem Versuch findet sich eine Erhöhung der EPP-Amplitude um ca. 15%. In anderen Versuchen (s. Tab. 2 und 3) war im Ultrafiltrat die Amplitude um den gleichen Betrag kleiner. Bemerkenswert erscheint, daß die MEPP-Höhe, also die postsynaptische Empfindlichkeit, konstant bleibt.

Curare gemindert werden. Das soll postsynaptischer Block genannt werden (43,44).

3.6.1.

Bei präsynaptischer Hemmung (33, 34, 35, 36) werden pro Nervenaktionspotential ca. 2 - 10 ACh - Quanten freigesetzt (37, 38), während normalerweise 100 - 200 Quanten freigesetzt werden (16, 17, 18, 19). Wendet man die in Abschnitt 3.3 umrissenen Modellvorstellungen an, so wird deutlich:

Im präsynaptischen Block wird das Reservoir V an direkt verfügbaren ACh pro Nervenaktionspotential um etwa 1% entleert. Die Entleerung wird auch bei frequenter Reizung nicht wesentlich auf die EPP- Amplituden einwirken. Deshalb wird eine Änderung der EPP-Amplituden während wiederholter Reizung aufzufassen sein als eine Änderung der Freisetzungswahrscheinlichkeit p. Untersuchungen von BRAUN et al. (39, 55) haben gezeigt, daß die EPP-Amplitude bei frequenter Reizung in Abhängigkeit von der Reizfrequenz zunimmt. Abbildung 4 zeigt einen eigenen Versuch im präsynaptischen Block. Es wird deutlich, daß die EPP-Amplitude bei höherer Reizfrequenz größer ist. Diese Zunahme der Amplitude ist zurückzuführen auf eine Änderung der Freisetzungswahrscheinlichkeit. In Abbildung 5 sind die Ergebnisse eines Versuches dargestellt, in dem die Wirkung von Serum-Ultrafiltrat und Ringer-Lösung auf die EPP-Amplitude verglichen wurde. Die MEPP-Amplitude ist praktisch konstant. Ein postsynaptischer Effekt ist damit auszuschließen. Die EPP-Amplitude in Serum - Ultrafiltrat ist um ca. 15 % erhöht. An anderen Fasern wurden jedoch in Serum auch Potentiale registriert, die im Mittel 15 % kleiner waren als diejenigen in Ringer - Lösung. In Abschnitt 3.2 wurde gesagt, daß

eine 15 prozentige Änderung der EPP- Amplitude im Fehlerbereich der Ca^{++} - Bestimmung liegt. Es konnte also kein Einfluß von Serum auf die Freisetzungswahrscheinlichkeit nachgewiesen werden.

In Tabelle 2 sind die Ergebnisse von EPP-Ableitungen an 17 Fasern zusammengestellt:

Die Reizfrequenz betrug 3/sec. Jeder Wert stellt den Mittelwert von mindestens 1.080 Potentialen dar. Die unterschiedliche Absoluthöhe der EPP erklärt sich einmal aus der Tatsache, daß zur Blockierung der neuromuskulären Übertragung verschieden hohe Mg^{++} - Konzentrationen gewählt wurden, zum anderen aus den unterschiedlichen Registrierbedingungen (RP, Faserdicke usw. (11). Die mittlere Quantenzahl wurde bestimmt als Quotient $\text{EPP-Amplitude/MEPP- Amplitude}$ (18). Da die MEPP- Amplitude gleichzeitig ein Maß für die postsynaptische Empfindlichkeit ist, sich aber durch Änderungen des RP beeinflussen läßt, geht mit den MEPP ein Korrektiv für RP-Veränderungen in die Rechnung ein. Daraus ergibt sich, daß die mittlere Quantenzahl ein genaueres Maß für ACh-Ausschüttung darstellt, als die EPP- Amplitude. Die statistischen Bestimmungsmethoden für die mittlere Quantenzahl (s.Methodik) zeigen in der Tabelle gute Übereinstimmung mit der oben angeführten Methode der Quotientenbildung EPP/MEPP. So ist auch für den Fall, daß keine MEPP abgeleitet werden konnten, die Bestimmung der Quantenzahl verlässlich (18, 41, 42).

In Tabelle 3 sind die Ergebnisse bei einer Reizfrequenz von 30/sec. aufgeführt. In den Spalten 7 und 8 ist die Zunahme der Amplitude bei Reizung mit 30/sec. gegenüber 3/sec. als Quotient aufgetragen. (Tetanische Facilitation).

Der statistische Vergleich der Spalten 5 -7 mit den Spalten 8 -10 in Tabelle 2 und der Spalte 7 mit Spalte 8 in Tabelle 3 durch den WILCOXON- Test für Paardifferenzen ergab:

Die EPP- Amplitude war in Ultrafiltrat im Vergleich zu

TABELLE 2

Faser Nr.	Serum			Ultrafiltrat			Ringer		
	Ampl. (mV) 2	Quanten (N ₀) 3	Quanten (MEPP) 4	Ampl. (mV) 5	Quanten (N ₀) 6	Quanten (MEPP) 7	Ampl. (mV) 8	Quanten (N ₀) 9	Quanten (MEPP) 10
1									
2				1,91	3,20		1,15	2,44	
3				1,10	1,22		0,67	1,06	
4				1,31	3,12	2,80	1,20	2,05	
5				1,13			0,84	3,78	1,69
6				1,31		3,94	0,67	3,79	3,78
7				1,39	5,15	5,01	1,38	4,95	3,78
8				3,95		6,71	3,45	4,69	4,21
9				1,08	1,87	1,79	0,98	1,84	4,78
10	1,07		1,42	0,82	4,90	3,42	0,78	4,13	1,90
11	1,80		1,50				0,98	2,50	3,01
12 ^a				1,17	5,20	1,74	1,05	1,58	1,58
12 ^b	0,83		2,94	1,20		3,55	1,26	3,85	1,38
13 ^a				2,67	4,69	3,69	0,91		3,00
13 ^b	0,69	3,55	2,40				2,97	4,78	3,09
16							0,69	2,33	3,74
17				0,22	1,62	1,44			2,79
18				0,17	0,89	0,84	0,41	3,09	2,73
19				0,67	1,75	1,60	0,34	1,70	1,69
				1,00	3,75	3,16	0,70	1,82	1,62
							0,74	2,30	2,33
M	1,10		2,07	1,32	3,13	3,07	1,11	3,00	2,71
m				$\pm 0,23$	$\pm 0,48$	$\pm 0,38$	$\pm 0,17$	$\pm 0,31$	$\pm 0,26$

M = Mittelwert

m = mittlerer Fehler des Mittelwertes

TABELLE 3

Faser Nr.	Ringer		Serum - Ultrafiltrat				Ringer	Ultrafiltrat
	Ampl. (mV)	Quanten (N _O)	Quanten (MEPP)	Ampl. (mV)	(N _O)	Quanten (MEPP)		
	1	2	3	4	5	6	7	30/3
1	1,83			1,83			1,59	0,96
2	1,18			1,87			1,83	1,70
3	1,84			1,85			1,29	1,46
4	1,23	2,83		1,48	2,75	2,64	1,46	1,32
5	1,43			1,98			2,13	1,57
6	1,89	5,74	5,21	1,85	5,19	5,55	1,37	1,33
7	3,69		5,50	3,97		5,95	1,06	1,00
8	1,92	3,90	3,50	1,96	3,67	3,50	1,96	1,87
18	1,70	3,66	3,59	2,11	4,40	4,24	2,43	3,15
M	1,86			2,10			1,68	1,60
m	<u>+0,23</u>			<u>+0,22</u>			<u>+0,14</u>	<u>+0,20</u>

M = Mittelwert, m = mittlerer Fehler des Mittelwertes.

Legende zu den Tabelle 2 und 3:

In Tabelle 2 sind die Ergebnisse langer Reizserien im präsynaptischen Block zusammengestellt. Die Reizfrequenz betrug 3/sec.

Die Amplitudenmittelwerte in den Spalten 2,5 und 8 wurden jeweils aus 1080 EPP-Amplituden berechnet. Die entsprechenden Quantenzahlen wurden einmal (siehe Seite 7, 2a) aus der Zahl der Reize ohne Reizerfolg (N_0) -Spalten 3, 6 und 9- zum anderen durch Division der EPP durch die MEPP (siehe Seite 7) ermittelt.(Spalten 4,7 und 10).

In Tabelle 3 betrug die Reizfrequenz 30/sec. Der Berechnung wurden jeweils das 100. - 300.Potential zugrunde gelegt. In den Spalten 7 und 8 wurde der Quotient aus der mittleren Amplitude bei 30/sec. und 3/sec. als Maß für die Bahnung der ACh-Freisetzung angeführt.

Anhang:

Beispiel für die Auswertung einer Originalregistrierung im Magnesium-Block.(EPP-Amplitude in mV. 10^{-2})
31/15/31/28/10/ 32/ 25/34/39/30/38/16/21/23/50/88/56/23/
27/10/49/11/80/25/45/22/31/12/40/00/ usw.

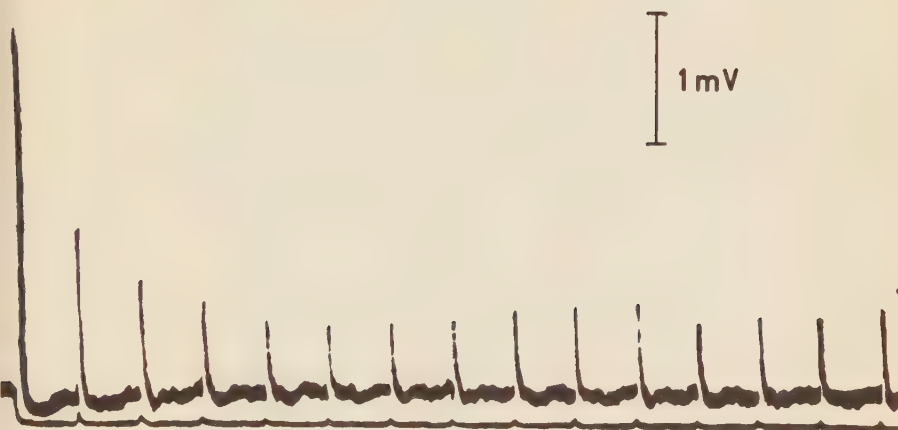
Ringer-Lösung schwach signifikant erhöht. Werden die mittleren Quantenzahlen verglichen, so besteht kein signifikanter Unterschied mehr. Die Amplituden sind im Ultrafiltrat um 19 % gegenüber Ringer erhöht, die Erhöhung der Quantenzahl betrug jedoch nur 4,5 %. Ein geringer systematischer Fehler in der Ca^{++} -Bestimmung könnte eine derartige Abweichung verursachen. Interessanterweise ist die Bahnung (Spalte 7 und 8 Tabelle 3) praktisch gleich groß in Ultrafiltrat und Ringer. Die wenigen Experimente in Serum zeigen keinen Unterschied zu den Experimenten in Ultrafiltrat.

3.6.2

Wird die neuromuskuläre Übertragung postsynaptisch gehemmt, etwa durch d-Tubocurarin (Fa.ASTA) (43,44), so wird die präsynaptische Ausschüttung von ACh nicht beeinflusst (49). Die pro Nervenaktionspotential freigesetzte Anzahl von ACh-Quanten beträgt wie beim nicht blockierten Muskel 100-200. Bezieht man diese Tatsache auf die in Abschnitt 3.3. geschilderten Modellvorstellungen, so zeigt sich, daß das Reservoir V an direkt verfügbarem ACh bei jedem Nervenimpuls um ca. $\frac{1}{3}$ entleert wird. (16,24,26) Ohne Nachlieferung aus dem Speicher wäre V nach wenigen Reizen entleert. Die EPP-Amplituden werden jetzt nicht allein durch die Freisetzungswahrscheinlichkeit, sondern auch durch die Nachlieferung in das Reservoir V beeinflusst.

In Abbildung 6 ist die Originalableitung von EPP während einer Reizserie im Curare-Block dargestellt. Aus dem Verlauf der EPP-Amplituden erkennt man, daß die Potentiale schnell an Höhe abnehmen, um sich dann auf ein Plateau einzustellen. Es stellt sich ein Gleichgewicht zwischen Freisetzung und Nachlieferung ein. Die Höhe des Plateaus ist unter anderem abhängig von der pro Zeiteinheit freigesetzten Menge an ACh. Diese kann

A B B I L D U N G 6



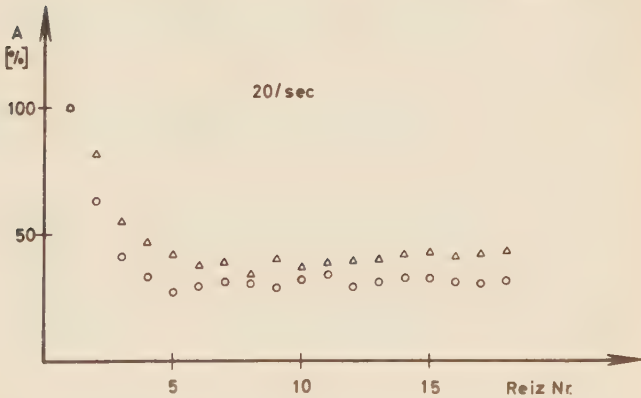
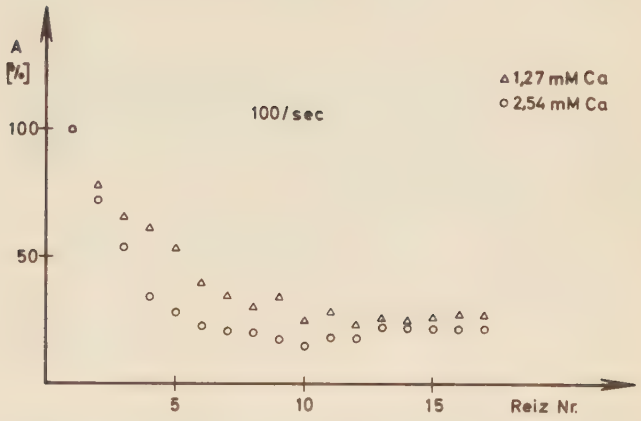
Original-Registrierung von EPP im Curare-Block.

Cu $3,5 \cdot 10^{-6}$, g/ml, Ca 1,2 mM, Mg 0,7 mM.

vergrößert werden durch eine Erhöhung der Freisetzungswahrscheinlichkeit oder durch eine Erhöhung der Reizfrequenz. Die Freisetzungswahrscheinlichkeit ist abhängig von der Konzentration der divalenten Ionen im Außenmilieu (47,48). Die initiale Freisetzung wiederum ist bestimmt durch die Höhe der Freisetzungswahrscheinlichkeit. Das Plateau wird sich -bezogen auf den Ausgangswert- umso niedriger einstellen, je höher die initiale Freisetzung ist. Dabei wird die Voraussetzung gemacht, daß der Transport der ACh-Vesikel proportional dem Konzentrationsgefälle zwischen dem Speicher und dem Reservoir ist. (25b) In Abbildung 7 ist ein Versuch abgebildet, der die eben angestellten Überlegungen veranschaulicht. Sowohl eine Erhöhung der Reizfrequenz, als auch eine Erhöhung der Ca-Konzentration im Außenmedium führen zu einem niedrigeren relativen Plateau. Die Effekte summieren sich. Die Empfindlichkeit gegenüber Ca^{++} -Veränderungen ist hier nicht so kritisch wie im präsynaptischen Block, was sich aus der Tatsache erklären läßt, daß im Curare-Block die Amplitude der EPP im Bereich des Plateaus weniger durch die Freisetzungswahrscheinlichkeit als durch die Nachlieferung von ACh bestimmt ist. Dies geht vor allem auch daraus hervor, daß die absoluten Amplituden im Versuch der Abb. 7 nahezu gleich hoch waren.

Die Einstellung des Plateaus erfolgt nur für kurze Zeit. Bei längerer Reizung (über 10/sec.) fällt das Plateau langsam weiter ab. ELMQUIST und QUASTEL (16) deuteten diesen Befund als ein Überwiegen der Entleerung gegenüber der Nachlieferung in den Speicher. Mit langen Reizserien ist also eine Störung der Bildung von ACh Vesikeln zu erfassen. Unter der Voraussetzung, daß Calcium lediglich den Freisetzungsprozeß beeinflußt, nicht aber die Nachlieferung und Resynthese von ACh, ist zu erwarten, daß Ca^{++} -Konzentrationsänderungen keinen Einfluß auf den Verlauf langer Reizserien haben.

ABBILDUNG 7



Legende zu Abbildung 7:

Kurze Reizserien im Curare-Block ($4,5 \cdot 10^{-6}$ g/ml)
bei verschiedener Ca^{++} -Konzentration und Reizfrequenz.
Ordinate: EPP-Amplitude in Prozent des 1. Potentials,
Abszisse: Nummer des Reizes. Man erkennt, daß sowohl
bei höherer Reizfrequenz als auch bei höherer
 Ca^{++} -Konzentration das relative Plateau der Amplituden tiefer liegt.
(Weitere Erklärungen im Text).

Abbildung 8 zeigt einen Versuch, in dem lange Reizserien in verschiedenen Ca^{++} -Konzentrationen durchgeführt wurden. Der Verlauf der Serien ist für alle Konzentrationen annähernd gleich. Die Depression der ACh-Freisetzung zeigt im Bereich dreifacher Konzentrationserhöhung keine Änderung.

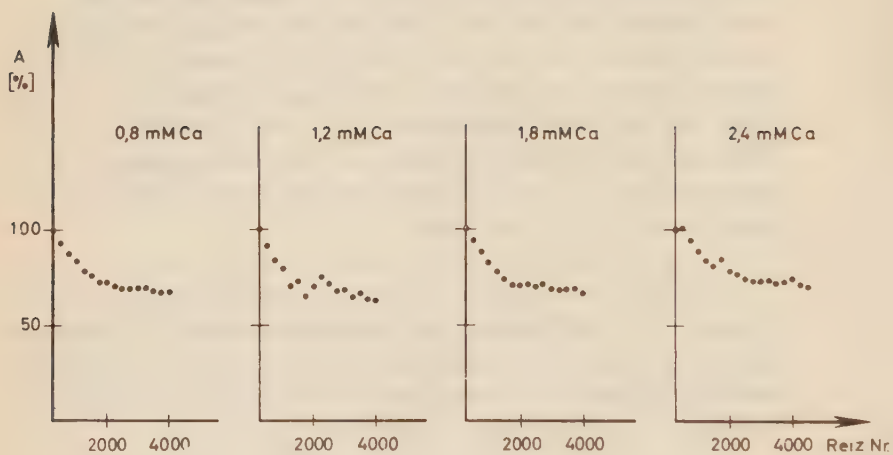
Abbildung 9 zeigt das Ergebnis eines Versuches, in dem kurze Reizserien im Curareblock gegeben wurden. Das Außenmedium war Serum und Ringer-Vergleichslösung. Es wird deutlich, daß der Verlauf der Reizserien für Serum, dessen Ultrafiltrat und Ringer-Lösung der gleiche ist. Die gleichen Ergebnisse wurden an 5 weiteren Fasern erzielt. Damit scheint Serum auf die Entleerung des Reservoirs V und auf die kurzzeitige Nachlieferung von ACh keinen Einfluß zu haben.

In Tabelle 4 sind die Ergebnisse langer Reizserien in Serum und Ringer-Lösung bei postsynaptischer Blockierung der neuromuskulären Übertragung dargestellt. Jeder Wert entspricht dem Mittelwert von 250 Potentialen, einmal zu Beginn, einmal ~~zu~~ gegen Ende einer Reizserie.

Da die Höhe des Einzelquants (q) sich nicht ändert, (Vergl. Abb. 10 und 11) wurde zur Berechnung der mittleren Quantenzahl (m) für die erste und letzte Gruppe von Potentialen (Spalte 1 bzw. 3 in Tabelle 4) der gleiche Wert q verwendet. q stellt hier den Mittelwert der Berechnung aus 2500 Potentialen dar.

Es fällt auf, daß Versuch 5 und 6 eine erheblich stärkere Abnahme der ACh-Freisetzung in Serum zeigen als die übrigen Versuche. Die initiale ACh-Freisetzung ist hingegen in Serum gegenüber Ringer-Lösung erhöht. Im Gegensatz zu den Experimenten 1-4 war die durch lange Reizung bedingte Verminderung der ACh-Freisetzung in den Experimenten 5 und 6 nicht reversibel.

ABBILDUNG 8



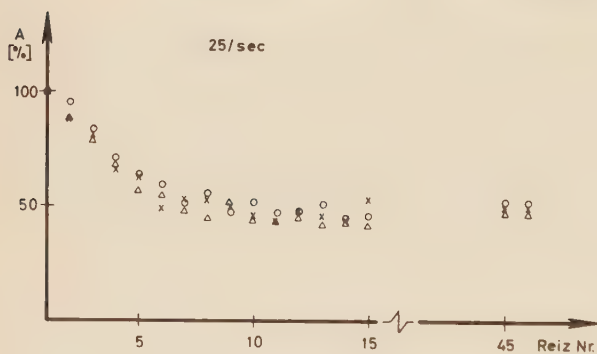
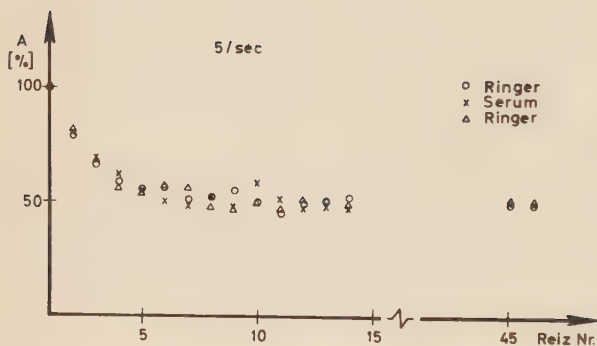
Legende nächste Seite

Legende zu Abbildung 8:

Lange Reizserien im Curare-block. In der Abbildung ist der Verlauf der Reizserien bei verschiedenen Ca^{++} -Konzentrationen dargestellt. Ordinate: Amplitude der EPP in Prozent des Mittelwertes der Potentiale 10-260. Abszisse: Nummer des Reizes. (Magnesiumkonzentration: 0,7 mM.)

Der Verlauf der EPP-Amplituden ist im Bereich 0,8 bis 2,4 mM, also im Bereich dreifacher Konzentrationsänderungen annähernd gleich. Ein Einfluß der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration auf die ACh-Nachlieferung scheint nicht vorzuliegen.

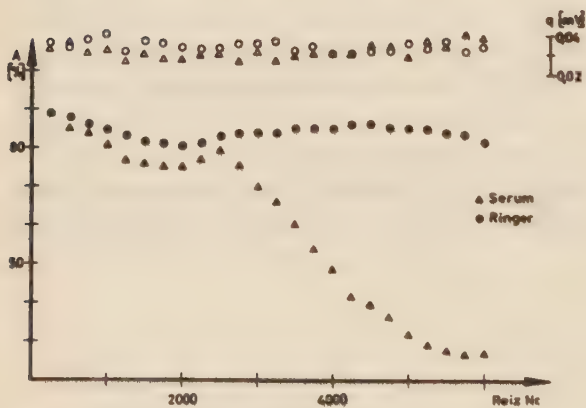
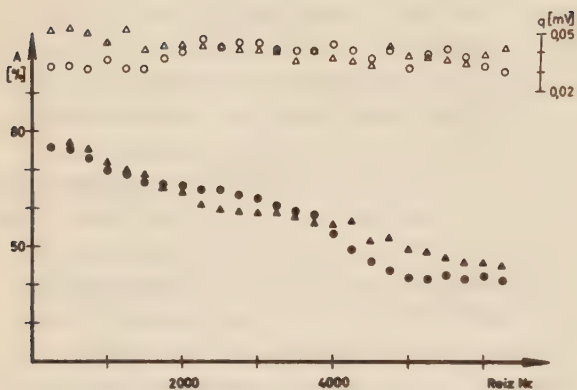
ABBILDUNG 9



Kurze Reizserien im Curare-Block ($4,0 \cdot 10^{-6}$ g/ml) mit verschiedener Reizfrequenz in Serum und Ringer-Lösung. Bezeichnung wie Abb. 7
 Der Verlauf der Reizserien in Serum und Ringer-Lösung ist gleich.

Der Verlauf der Amplituden in den Reizserien wird in den Abb. 10 und 11 dargestellt. Abb. 10 zeigt zwei Einzelversuche, oben Versuch 3 in Tab. 4, unten Versuch 6 in Tab. 4. Während in Versuch 3 der gesamte Verlauf der Amplituden in Ringer-Lösung und Serum der gleiche ist, gilt das hinsichtlich Versuch 6 nur für die ersten 2000 Potentiale. Die danach einsetzende Verminderung der Amplitude ist präsynaptischen Ursprungs, da, wie aus dem oberen Teil der drei Abbildungen ersichtlich, die postsynaptische Depolarisationswirkung des Einzelquants (q) etwa konstant bleibt. Die irreversible Abnahme der ACh-Freisetzung in Versuch 5 und 6 dürfte zurückzuführen sein auf eine Schädigung des Präparates. In diesen Versuchen wurde das Präparat aus versuchstechnischen Gründen (Erschütterungsempfindlichkeit bei Blasenbildung) während der Ableitung nicht mit Carbogengemisch durchperlt, sondern überströmt. Es kann nicht ausgeschlossen werden, daß dadurch eine Alkalose und Hypoxydose entstand, die sich erst im Verlauf der weiteren Reizung bemerkbar machte. Deshalb erschien es sinnvoll, für die mittlere Amplitude im Verlauf der Reizserien in Serum und Ringer-Lösung nur die Versuche 1-4 zugrunde zu legen. Abbildung 11 stellt die Mittelwertkurve der Versuche 1-4 dar. Es ist ersichtlich, daß die Kurven für Serum und Ringer-Lösung annähernd gleich verlaufen. In Serum zeigt sich für die ersten 1500 Reize eine geringfügige Steigerung der ACh-Freisetzung gegenüber Ringer-Lösung.

ABBILDUNG 10



Legende nächste Seite

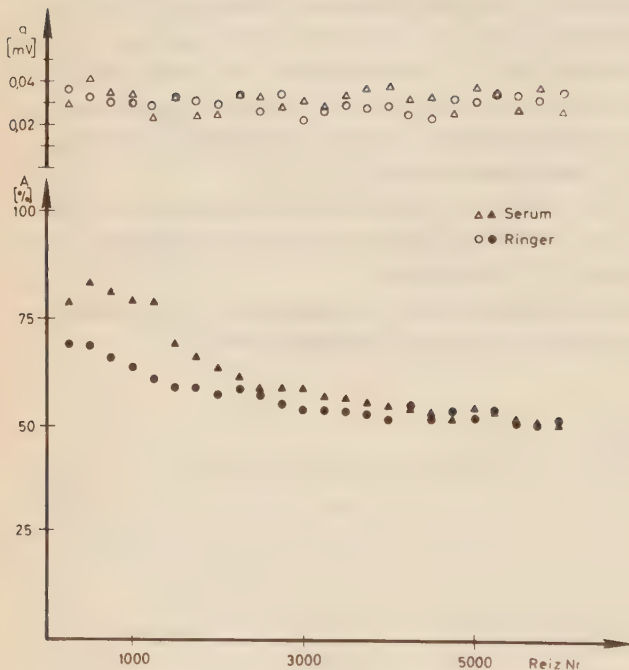
Legende zu Abbildung 10:

Lange Reizserien in Serum und Ringer-Lösung bei postsynaptischer Blockierung. Ordinate: Amplitude in Prozent des Mittelwertes der Potentiale 10- 260. Abszisse: Nummer des Reizes. Jeder Wert stellt den Mittelwert von 250 Potentialen. Im oberen Teil der Abbildungen ist jeweils die mittlere Größe des Einzelquants aufgezeichnet, die Ordinate bedeutet dabei: Amplitude in mV.

Die oberen Kurven stellen den Versuch 3, Tabelle 4, dar, die unteren Kurven zeigen die Ergebnisse des Versuches 6, Tabelle 4.

Curare-Konzentration: 3,5 und 4,0 . 10^{-6} g/ml.
(Weitere Erklärungen im Text).

ABBILDUNG 11



Lange Reizserien im Curare-Block. Die Punkte stellen den Mittelwert der Ergebnisse von 4 Fasern dar. Bezeichnung wie Abb. 10. Der Verlauf der Kurve in Serum und Ringer-Lösung ist - abgesehen von einer geringfügigen initialen Erhöhung in Serum - gleich. Dieses Ergebnis weist darauf hin, daß Serum auch auf die Nachlieferung von Acetylcholin keinen Einfluß hat.

T A B E L L E 4

Faser Nr.	Potential 10 - 260		Potential 5750 -6000				m_2/m_1
	Amplitude 1	m_1 2	Amplitude 3	α 4	m_2 5	6	
1 Ringer Serum	0,45 0,29	39,3 26,6	0,32 0,15	0,011 0,11	28,4 13,9	0,72 0,52	
2 Ringer Serum	0,22 0,26	15,5 23,2	0,12 0,16	0,015 0,11	8,5 15,5	0,55 0,62	
3 Ringer Serum	1,96 1,26	25,8 18,5	1,77 1,21	0,072 0,068	24,6 17,7	0,96 0,96	
4 Ringer Serum	0,56 0,91	21,4 14,0	0,40 0,48	0,026 0,065	15,3 7,4	0,71 0,53	
5 Ringer Serum	1,51 2,23	37,7 53,0	1,38 1,33	0,040 0,042	34,5 31,6	0,93 0,60	
6 Ringer Serum	1,73 2,14	69,2 84,2	1,58 0,61	0,025 0,025	63,2 24,5	0,91 0,29	

Legende zu Tabelle 4:

In dieser Tabelle sind die Ergebnisse langer Reizserien im Curare-Block zusammengestellt. Jeder Wert stellt den Mittelwert von 250 Potentialen dar.

Anhang:

Beispiel für die Auswertung einer Originalregistrierung im Curare-Block: 190/100/78/77/81/80/81/68/87/84/70/73/72/77/79/76/73/82/79/73/81/75/83/87/80/78/89/85 usw.
(EPP- Amplitude in mV. 10^{-2})

Man erkennt deutlich die schnelle Entleerung und die Einstellung eines Plateaus. Im Bereich des Plateaus ist die Streuung der Einzelwerte klein.

T A B E L L E 4

Faser Nr.	Potential 10 - 260		Potential 5750 - 6000				m_2/m_1
	Amplitude 1	m_1 2	Amplitude 3	α 4	m_2 5	6	
1 Ringer Serum	0,45 0,29	39,3 26,6	0,32 0,15	0,011 0,11	28,4 13,9	0,72 0,52	
2 Ringer Serum	0,22 0,26	15,5 23,2	0,12 0,16	0,015 0,11	8,5 15,5	0,55 0,62	
3 Ringer Serum	1,96 1,26	25,8 18,5	1,77 1,21	0,072 0,068	24,6 17,7	0,96 0,96	
4 Ringer Serum	0,56 0,91	21,4 14,0	0,40 0,48	0,026 0,065	15,3 7,4	0,71 0,53	
5 Ringer Serum	1,51 2,23	37,7 53,0	1,38 1,33	0,040 0,042	34,5 31,6	0,93 0,60	
6 Ringer Serum	1,73 2,14	69,2 84,2	1,58 0,61	0,025 0,025	63,2 24,5	0,91 0,29	

Legende zu Tabelle 4:

In dieser Tabelle sind die Ergebnisse langer Reizserien im Curare-Block zusammengestellt. Jeder Wert stellt den Mittelwert von 250 Potentialen dar.

Anhang:

Beispiel für die Auswertung einer Originalregistrierung im Curare-Block: 190/100/78/77/81/80/81/68/87/84/70/73/72/77/79/76/73/82/79/73/81/75/83/87/80/78/89/85 usw. (EPP- Amplitude in mV. 10^{-2})

Man erkennt deutlich die schnelle Entleerung und die Einstellung eines Plateaus. Im Bereich des Plateaus ist die Streuung der Einzelwerte klein.

4. Diskussion

In der vorliegenden Arbeit sollte exemplarisch am Beispiel des menschlichen Normalserums gezeigt werden, wie der Einfluß einer in ihrer Wirkung unbekannten Substanz auf die neuromuskuläre Übertragung getestet werden kann. Ferner sollte die Frage beantwortet werden, ob die gewöhnlich bei Nerv-Muskel-Präparaten verwendete Blutersatzlösung in Bezug auf die neuromuskuläre Übertragung ein ausreichendes physiologisches Äquivalent zum Blut darstellt.

Es wurden einige Voraussetzungen gemacht, die hier noch einmal erläutert werden sollen:

Die intrazelluläre Ableitung von EPP bietet große Vorteile bei der Beurteilung von Teilfunktionen der motorischen Nervenendigung. Sie gestattet am blockierten Muskel die Ableitung von kontinuierlich veränderlichen EPP-Amplituden. So können Störungen der neuromuskulären Übertragung erfaßt werden, die sich unter Normalbedingungen noch nicht in einem Ausfall von Muskelaktionspotentialen bemerkbar machen, sondern lediglich die Differenz zwischen EPP-Amplitude und der Schwelle für Muskelaktionspotentiale verringern (2b). Die Methode ist also spezifischer und empfindlicher als die üblichen pharmakologischen Methoden. Die extrazelluläre Massenableitung von EPP würde ebenfalls den Vorteil der größeren Empfindlichkeit bieten, sie stellt aber immer die Ableitung von Summationspotentialen dar. Damit geht die Möglichkeit der Unterscheidung von Teilfunktionen der neuromuskulären Übertragung verloren. So kann besonders nicht mehr zwischen prä- und postsynaptischen Veränderungen unterschieden werden.

Die Theorie von der quantalen Freisetzung von ACh an der motorischen Endplatte (18,42) liefert statistische

Methoden, um Aussagen über Teilfunktionen der neuro-muskulären Übertragung zu machen. Die Sicherheit der Aussage hängt weitgehend davon ab, wie genau Potentialveränderungen unter den verschiedenen Versuchsbedingungen gemessen werden können. (11,53) Für den präsynaptischen Block zeigte sich, daß die Bestimmung der freien Ionen im Serum den limitierenden Faktor in der Genauigkeit der Methode darstellte (Abschn. 3.2). Das gilt besonders für die Calcium -Ionen, während für die übrigen Kationen die Empfindlichkeit im physiologischen Konzentrationsbereich nicht sehr groß ist. Es war deshalb möglich, Osmolaritätsunterschiede durch NaCl auszugleichen, denn die Natriumkonzentrationen, welche einen deutlichen Effekt auf die ACh-Freisetzung haben, liegen außerhalb des Bereiches der hier angewandten Konzentrationen (46, 52).

Bei der statistischen Bestimmung der mittleren Quantenzahl (Seite 7, 2b) kann die Höhe des Rauschpegels der elektrischen Ableitung wesentlich zu einer Fehleinschätzung der mittleren Quantenzahl beitragen, wobei die folgende Beziehung gilt:

$$s_M^2 = s_Q^2 + s_R^2 + s_{MEPP}^2 \quad (1)$$

s_M = Standardabweichung einer Serie gemessener Amplituden,

s_R = " die auf die Störung der Messung
(Elektrodenrauschen etc.) zurückgeht,

s_Q = " die auf die Quantelung des Freisetzungsprozesses zurückzuführen ist,

s_{MEPP} = " die auf die unterschiedliche Größe
der Einzelquanten zurückgeht.

Wenn man s_{MEPP} vernachlässigt, so ergibt die Division durch x :

$$CV_M^2 = CV_Q^2 + \frac{s_R^2}{\bar{x}^2} \quad (2)$$

$\bar{x}$ = Mittelwert einer Serie von Amplituden

CV = Variationskoeffizient) (Indices wie oben)

m = mittlere Quantenzahl

$$CV_Q^2 = CV_M^2 \left(1 - \frac{s_R^2}{\bar{x}^2} \cdot m_M \right) \quad (3)$$

$$m_Q = \frac{\frac{m_M}{2}}{1 - \frac{s_R^2}{\bar{x}^2} \cdot m_M} \quad (4)$$

Durch die Auswertung der Ergebnisse am Computer wurde s_R zwischen 20 - 40 μV ermittelt, während $\bar{x}$ meist über 500 μV betrug. nach der Formel 4 (Seite 21) würde bei $m = 50$ die mittlere Quantenzahl um ca. 10% zu niedrig bestimmt. Der Fehler, der durch die Vernachlässigung der Streuung der Einzelquanten entsteht, beträgt ebenfalls etwa 10% (42).

Auf eine Korrektur der durch Ruhepotentialveränderungen eintretenden EPP-Amplitudenveränderung, wie sie von MARTIN (41) vorgeschlagen wurde, ist verzichtet worden. Wie in Abschnitt 3.4. erläutert, werden Ruhepotentialveränderungen schon durch die Berechnung der mittleren Quantenzahl korrigiert. Eine Korrektur für nicht lineare Addition war nicht notwendig, weil in den Fällen, in denen die mittlere Quantenzahl nach statistischen Methoden berechnet wurde, die mittlere Amplitude der EPP 2-3 mv nicht überstieg (41,42).

Während die quantale Freisetzung von ACh an der motorischen Endplatte heute als gesicherte Theorie angesehen werden kann, (KATZ et al. wies 1965 den Aufbau ^{des} EPPs aus Einzelquanten experimentell nach (19)) tragen die Modellvorstellungen über die ACh-Freisetzung noch weitgehend den Charakter einer Arbeitshypothese (25 a-b). Dementsprechend ist die Deutung der Versuchsergebnisse erst dann als richtig anzusehen, wenn der endgültige Beweis der Arbeitshypothese erfolgt ist.

Die hier gewonnenen Ergebnisse gelten nur für das kurzzeitige Einwirken von Normalserum. Die Badflüssigkeit wurde jeweils nach einer halben Stunde ausgetauscht, und nach jedem Wechsel vergingen 10 Minuten bis zur nächsten Registrierung. Damit kann also ein Einfluß von Normalserum, der erst nach längerem Einwirken auftritt, nicht ausgeschlossen werden. Die Aufbereitung des Serums dauerte im Durchschnitt 12 Stunden. Es ist also auch nicht auszuschließen, daß ein Serumfaktor vorliegt, der in der genannten Zeit autolytisch abgebaut wird.

Es wird vielleicht die Kritik erhoben, daß im prä-synaptischen Block vergleichende Untersuchungen in Serum, dessen Ultrafiltrat und Ringer-Lösung stattfanden, während im Curareblock die Untersuchungen in Ultrafiltrat weitgehend unterlassen wurden. Die vorangehende Untersuchung in Ultrafiltrat schien in sofern gerechtfertigt, als man vermuten konnte, daß ein kurzfristiger Serumfaktor eine Molekülgröße unter 10.000 hat und damit das Filter passieren konnte. Als sich im präsynaptischen Block bei kurzen Reizserien kein Unterschied zwischen Ultrafiltrat und Serum ergab, wurde im Verlauf der weiteren Untersuchung auf Ultrafiltrat verzichtet.

Die vorliegende Arbeit machte eine Reihe von Voruntersuchungen notwendig, deren Ergebnisse z.T. interessant erscheinen:

Im postsynaptischen Block mußte die effektive Curare-Konzentration in allen Badlösungen gleich sein, um vergleichbare Aussagen über die mPP-Amplitude zu gewinnen. Bei der Ultrafiltration von Serum, welches mit Curare versetzt worden war, stellte sich heraus, daß im Bereich der Curare-Konzentrationen von $2,0 - 8,0 \cdot 10^{-6}$ g/ml ca. 50% Curare nicht ultrafiltrabel war. Es liegt die Vermutung nahe, daß Curare z.T. an Serumeiweißkörper gebunden wird.

Die bei der Voruntersuchung notwendige Bestimmung der freien Kationen im Serum stimmte gut mit den Resultaten in der Literatur überein (12,13). Die Ergebnisse der Bestimmungen machten es möglich, eine Blutersatzlösung zu schaffen, deren Gehalt an Kationen dem wirksamen Ionengehalt im Serum, nämlich den freien Ionen, entsprach. Den allgemein üblichen Blutersatzlösungen (22) liegen die Analysen des Gesamtionengehaltes zugrunde, wodurch besonders der Gehalt an Calcium und Magnesium zu hoch gewählt wird.

Die von RAHAMINOFF et al. kürzlich am Froschmuskel gefundene Veränderung der ACh-Freisetzung unter dem Einfluß von Calcium-Konzentrationsänderung im Außenmilieu(47), konnte in dieser Arbeit teilweise quantitativ für den warmblütermuskel bestätigt werden. So gilt auch für den warmblütermuskel, daß die ACh-Freisetzung in der 4. Potenz von der calcium-Konzentration im Außenmilieu abhängig ist.

Während sich also im präsynaptischen Block eine deutliche Abhängigkeit der Amplitudenhöhe von der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration zeigte, konnte ein ähnlicher Befund im postsynaptischen Block nicht erhoben werden. Besonders bei langen Reizserien im Curare-Block konnte selbst dann, wenn die Ca^{++} -Konzentration um das Doppelte erhöht wurde, kein Einfluß auf die Höhe der

EPP-Amplitude festgestellt werden. Nach den in Abschnitt 3.6.2 angestellten Überlegungen hat Calcium demzufolge keinen Einfluß auf die Nachlieferung von Acetylcholin. Die Zahl der durchgeführten Experimente ist zu klein, um eine sichere Aussage in diesem Punkt zu treffen; es wäre jedoch möglich, mit einem ähnlichen experimentellen Ansatz weitere Erkenntnisse über ACh-Nachlieferung zu gewinnen.

Die Hauptuntersuchung hat gezeigt, daß menschliches Normalserum auf keine Teilfunktion der neuromuskulären Übertragung einen eindeutigen Effekt hat, wenngleich in zwei Punkten keine sichere Aussage getroffen werden kann:

1. In Serum fand sich eine Erhöhung der Spontanfreisetzungsrates um etwa 50%, die schwach signifikant war. Dieser Effekt läßt sich weder durch Änderung der Ca^{++} - und Mg^{++} -Konzentration im Außenmilieu (32), noch durch eine Erhöhung der Kaliumkonzentration erklären (15).
2. Während langer Reizserien im Curare-Block fand sich in 2 von 6 Fasern eine initiale Steigerung der ACh-Ausschüttung, die nach ca. 2000 Reizen in eine stärkere Depression überging.

Dieser im Serum beobachtete Effekt war im Gegensatz zu allen anderen Veränderungen nicht reversibel. Es wurde schon darauf hingewiesen (Abschn. 3,6.2), daß eine notwendige Änderung des Versuchsaufbaus in diesen Versuchen zu einer vorübergehenden Alkalose und Hypoxydase im Außenmilieu führte. Darauf könnten die beschriebenen Resultate zurückzuführen sein, denn GAGE und HUBBARD (54) fanden bei einer Alkalose ähnliche Veränderungen der ACh-Freisetzung.

Für weitere Untersuchungen mit Myastheniker-Serum ist der Befund wichtig, daß unter den vorliegenden Versuchsbedingungen auch bei längerer frequenter Reizung die mittlere Quantengröße konstant bleibt. Eine Synthesestörung von ACh, wie sie von LINQUIST et al. (51) durch

Hemicholin erzeugt wurde, ist damit ausgeschlossen. Dieser Befund erlangt Bedeutung durch die Tatsache, daß im myasthenischen Muskel die Höhe der MEPP ca. um den Faktor 5 verringert ist (50 und eigene Beobachtung).

Wie in der Einleitung schon erwähnt, ist für den Warmblütermuskel die Frage bisher nicht geklärt worden, ob die allgemein verwendete Ringer-Vergleichslösung eine adäquate Vergleichslösung darstellt, oder ob etwa Normalserum für die neuromuskuläre Übertragung günstigere Bedingungen schafft. Nach den vorliegenden Versuchsergebnissen ist ein solcher Einfluß nicht vorhanden. Das gilt zumindest für die Applikation von Menschenserum am Goldhamsterzwerchfell. Versuche am Menschenmuskel (eigene Beobachtung) wiesen jedoch darauf hin, daß sich auch dort kein Einfluß auf die postsynaptische Empfindlichkeit und die Freisetzung von ACh zeigt. Die Frage, ob Serum die Nachlieferung von ACh hemmend beeinflusst, konnte nicht mit Sicherheit beantwortet werden. Die vorliegenden Ergebnisse lassen jedoch den Schluß zu, daß die allgemein bei Nerv-Muskel-Präparationen verwendete Ringer-Lösung eine physiologische Blutersatzlösung darstellt.

Zusammenfassung:

Am Nerv-Muskelpräparat (Goldhamsterzwerchfell) wurde der Einfluß von menschlichem Serum auf die neuromuskuläre Übertragung untersucht. Es wurde gezeigt, daß mit Hilfe der intrazellulären Ableitung von Endplattenpotentialen und Miniaturendplattenpotentialen Teilfunktionen der synaptischen Übertragung untersucht werden können. Die Experimente zeigten folgende Ergebnisse:

- 1.) Auf die Empfindlichkeit der postsynaptischen Membran gegenüber Acetylcholin, auf die Synthese, Speicherung, Nachlieferung und Freisetzung von Acetylcholin hat menschliches Serum keinen Einfluß.
- 2.) Die am Froschmuskel gefundene Abhängigkeit der ACh-Freisetzung von der extrazellulären Ca^{++} -Konzentration konnte für Warmblütermuskulatur quantitativ bestätigt werden.
- 3.) Es wurde auf Grund einiger Experimente die Vermutung ausgesprochen, daß die extrazelluläre Ca^{++} -Konzentration keinen Einfluß auf die Nachlieferung von Acetylcholin hat.

Die Versuchsergebnisse lassen den Schluß zu, daß die allgemein bei Nerv-Muskelpräparationen verwendete Blutersatzlösung für die Untersuchungen der neuromuskulären Übertragung ausreichende physiologische Bedingungen schafft.

Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft
(GA 37/15)

Herrn Prof. O.H. Gauer gilt mein Dank für seine großzügige Unterstützung der Arbeit.

Besonders danke ich Herrn Dr. P. Kruckenberg für seine wertvolle Diskussion und Kritik.

Mein Dank gilt ebenfalls Fräulein J. Nöring für die sorgfältige technische Assistenz.

Ich danke Herrn Prof. Grüsser, daß er für die elektronische Auswertung der Versuchsergebnisse einen Linc-8-Computer zur Verfügung stellte.

- 1) Ossermann, K.E.
(1958)
Myasthenia gravis, Verlag Grune
& Stratton N.Y., London 1958
- 2) Desmedt, J.E.
(1961)
Neuromuscular defekt in myasthenia Gravis, electrophysiological and histopathological evidence. In "Myasthenia Gravis", H.R. Viets Ed.: 150-178. Ch. Thomas, Springfield, III.
- 3) Desmedt, J.E.
(1966)
Presynaptic mechanism in Myasthenia gravis. In "Myasthenia gravis" Ann.N.Y.Ac.Sc.135; 209-246
- 4) Schwarz, H.
(1952)
Curare-like factor in serum of Myasthenia gravis patients. Canad.M.A.J. 67; 238
- 5) Nastuk, W.L. /
Strauss, A.J.L. /
Ossermann, K.E.
(1959)
Search for a neuromuscular blocking agent in the blood of patients with Myasthenia gravis. Am. J. Med. 26; 396
- 6) Walker, M.B.
(1938)
Myasthenia gravis; Case in which fatigue of the forearm muscles could induce paralysis of extraocular muscles. Proc. Roy. Soc. Med. 31; 722
- 7) Struppler, A.
(1955)
Experimentelle Untersuchungen zur Pathogenese der Myasthenie. Ztschr.f.d.exp.Med.125; 244
- 8) Lammers, W. /
Most v. Spijk
(1954)
Unsuccessfull attempt to demonstrate a paralytic factor in serum of Myasthenia gravis patients. Nature 173; 1192
- 9) Bergh, N.P.
(1953)
Biologie assay in Myasthenia gravis for any agent causing a neuromuscular block. Scand.J.Clin. & Lab. Inv. (Supp.5) 5; 1
- 10) Parkers, J.D. /
Mc Kinna, J.A.
(1966)
Neuromuscular blocking activity in the blood of patients with Myasthenia gravis. The Lancet 19; 388
- 11) Fatt, P. / Katz, B.
(1951)
An analysis of the end-plate-potential recorded with an intracellular method. J. Physiol. 115; 320
- 12) Toribara, T.Y. /
Terpka, R.A. /
Dewey, P.A.
(1957)
The ultrafiltrable Calcium of human serum. I. Ultrafiltration methods and normal values. J. Clin. Invest. 36; 738

- 13) Walser, M.
(1960) Determination of free Magnesium in body fluids:improved methods for free Ca Ions, Total Ca and total Mg. Anal. Chem. 32; 711
- 14) Copeland, B.E./
Sundermann, F.W.
(1952) The Magnesium binding properties of the serum proteins. J. biol. Chem. 197 ; 331
- 15) Liley, A.W.
(1956) The effects of presynaptic polarisation on the spontaneous activity of the mammalian neuromuscular junction.
J. Physiol. 134 ; 427
- 16) Elmquist, D./
Quastel, D.M.J.
(1965) A quantitative study of end-plate-potentials in isolated human muscle.
J. Physiol. 178 ; 505
- 17) Brooks, V.B./
Thiess R.E.
(1962) Reduction of quantum content during neuromuscular transmission. J. Physiol. 162 ; 298
- 18) del Castillo, J./
Katz, B. (1954) Quantal componets of the end-plate potential J. Phys. 124; 560
- 19) Katz, B./
Miledi, A. (1965) The effect of temperature on the synaptic delay at the neuromuscular junction. J. Phys. 181; 656
- 20a) Dodge, F.A./
Rahaminoff, R
(1967) On the relationship between Ca-concentration and the amplitude of the end-plate potential. J. Physiol. 189 ; 90 P
- 20b) Dodge, F.A.
Rahaminoff, R.
(1967) Cooperative action of Calcium ions in transmitter release at the neuromuscular junction. J. Physiol. 193; 419
- 21) Takeuchi, A. /
Takeuchi, N.
(. 1961) Changes in Potassium concentration around motor nerve terminals, produced by current flow, and their effects on neuromuscular transmission. J. Phys. 155; 46
- 22) Birks, R./
Mc Intosh, F.C.
(1961) Acetylcholine metabolism of a sympathetic ganglion. Canad. J. Biochem. Physiol. 39 ; 787
- 23) Liley, A.W.
North, K.A.K.
(1953) An electrical investigation of effects of repetitive stimulation on mammalian neuromuscular junction. J. Neurophysiol. 16; 509
- 24) Takeuchi, A.
(1958) The long lasting depression in neuromuscular transmission of the frog. Jap. J. Physiol. 8; 102

- 25a) Kruckenberg, P./
Sandweg, R.
(1968) An analogmodell for Acetylcholine
release by motor nerve endings.
J.Theor.biol. 19; 327
- 25b) Kruckenberg, P.
(1967) Die Freisetzung von Acetylcholin
durch die motorische Nervendigung.
Deutung experimenteller Befunde
durch ein Analogmodell.
Kybernetik 4; 113
- 26) Thiess, R.E.
(1965) Neuromuscular depression and the
apparent depletion of transmitter
in mammalian muscle. J.Neuro-
physiol. 28 ; 427
- 27) Katz, B./
Thesleff, S.
(1957) On the factors which determine the
amplitude of the miniature end-pla-
te potential.J.Physiol. 137; 267
- 28) Boyd, J.A.
Martin, A.R.
(1956) Spontaneous subthreshold activity
at the mammalian neuromuscular
junction.J.Physiol. 132; 61
- 29) Liley, A.W.
(1956) An investigation of spontaneous
activity at the neuromuscular junc-
tion of the rat.J.Physiol.132; 650
- 30) Katz, B.
(1962) The transmission of impulses from
nerve to muscle and the subcellu-
lar unit of synaptic action.
Prod.Roy.Soc.B. 55; 455
- 31) del Castillo, J./
Katz, B.
(1954) Changes in end-plate activity pro-
duced by presynaptic polarisation.
J.Physiol. 124; 586
- 32) Hubbard, J.I.
(1961) The effect of Calcium and Magne-
sium on the spontaneous release
of transmitter at the mammalian
motor nerve ending. J.Physiol.
159; 507
- 33) del Castillo, J./
Engbaeck, L.
(1954) The nature of the neuromuscular
block produced by magnesium.
J. Physiol. 124 ; 370
- 34) Jenkinson, D.H.
(1957) The nature of the antagonism be-
tween Calcium and Magnesium ions
at the neuromuscular junction.
J.Physiol. 138 ; 434
- 35) Fatt, P /
Katz, B.
(1952) Spontaneous subthreshold activity
at motor nerve endings.
J. Physiol. 117; 109

- 36) del Castillo, J./
Katz, B.
(1954) The effect of magnesium on the
activity of motor nerve endings.
J.Physiol. 124 ; 553
- 37) del Castillo, J./
Katz, B.
(1954) Quantal components of the end-plate
potential. J.Physiol. 124; 560
- 38) Boyd, J.A./
Martin, A.R.(1956) The end-plate potential in mamma-
lian muscle.J.Physiol. 132; 74
- 39a) Braun, M./
Schmidt, R.F./
Zimmermann, M.
(1966) Facilitation at the frog neuromus-
cular junction during and after
repetitive stimulation. Pflügers
Arch.f.d.ges.Physiol. 287 ; 41
- 39b) Braun, M./
Schmidt, R.F.
(1966) Potential changes recorded from
the frog motor nerve terminal
during its activation. Pflügers
Arch. f.d.ges.Physiol. 287; 56
- 40) Hubbard, J.I.
(1963) Repetitive stimulation at the
mammalian neuromuscular junction
and the mobilisation of trans-
mitter. J.Physiol. 169; 641
- 41) Martin, A.R.
(1955) A further study of the statistical
composition of the end-plate po-
tential. J.Physiol. 130; 114
- 42) Martin, A.R.
(1966) Quantal nature of synaptic trans-
mission. Physiol.Rev. 46; 51
- 43) Eccles, J.C./
Katz, B./
Kuffler, S.W.
(1941) Nature of the end-plate potential
in curarized muscle. J. Neuro-
physiol. 4 ; 362
- 44) del Castillo, J./
Katz, B.
(1957) A study of curare action with an
electrical micromethode Proc.
Roy.Soc. 146 ; 339
- 45) Otsuka, M./
Endo, M./
Nonomura, Y.
(1962) Presynaptic nature of neuromuscular
depression. Jap.Physiol. 12; 573
- 46) Kelly, J.S.
(1965) Antagonism between Sodium and
Calcium at the neuromuscular junc-
tion. Nature London, 205; 296
- 47) Rahaminoff, R.
(1968) A dual effect of Calcium ions on
neuromuscular facilitations.
J.Physiol. 195 ; 471

- 48) Katz, B./
Miledi, R.
(1968) The role of calcium in neuromuscular facilitation.
J. Physiol. 195; 481
- 49) Bauer, H./
Kruckenberg, P.
(1967) Die präsynaptische Wirkung von d-Tubocurarin an der motorischen Endplatte.
Pflüg.Arch.ges.Physiol. 297; 23
- 50) Elmquist, D./
Hoffmann, W.W./
Kugelberg, J./
Quastel, D.M.J.
(1964) An electrophysiological investigation of neuromuscular transmission in Myasthenia gravis.
J. Physiol. 174; 417
- 51) Elmquist, D./
Quastel, D.M.J.
(1965) Presynaptic action of Hemicholinium at the neuromuscular junction.
J.Physiol. 177; 463
- 52) Colomo, F./
Rahaminoff, R.
(1968) Interaction between sodium and calcium ions in the process of transmitter release at the neuromuscular junction.
J. Physiol. 198; 203
- 53) Nastuk, W.L.
(1964) Physical techniques in biological research. Vol. V. pp 22 - 87.
Academic Press New York and London 1964
- 54) Gage, P.W./
Hubbard, J.I.
(1966) An investigation of the posttetanic potentiation of end-plate potentials at the mammalian neuromuscular junction.
J. Physiol. 184; 353
- 55) Lundberg, A./
Quilisch, H.
(1953) Presynaptic potentiation and depression of neuromuscular transmission in frog and rat.
Acta Physiol. Scand. 30 Suppl. 111;
111
- 56) Eccles, J.C.
(1964) The physiology of synapses.
Springer-Verlag, Berlin/Göttingen/Heidelberg (1964)

LEBENS LAUF

- Am 6.11.42 wurde ich als Sohn des Kaufmanns Werner Sandweg und dessen Ehefrau Inge, geb. Jungbluth in Wuppertal- Elberfeld geboren.
- 1949 wurde ich in Wuppertal Sonnborn eingeschult.
- 1953 wechselte ich auf das Städt. Neusprachliche Gymnasium Elberfeld über, wo ich am
- 22.2.62 das Abitur bestand.
- 1962 immatrikulierte ich mich für das Fach Humanmedizin an der Universität Marburg. Dort bestand ich im
- WS 1963 das Vorphysikum mit der Note " gut ".
- Im SS 64 bestand ich in Marburg das Physikum mit der Note " sehr gut ".
- Im SS 65 immatrikulierte ich mich an der Freien Universität Berlin. Dort bestand ich am
- 11.9. 69 die ärztliche Prüfung mit dem Urteil " sehr gut ".
- Seit 1965 bin ich am Physiologischen Institut der Freien der Freien Universität als Doktorand tätig. Die vorliegende Dissertation wurde in den Jahren 1965 - 68 erstellt.
- Seit 1965 bin ich Mitglied der Studienstiftung des Deutschen Volkes.

Druck:

DISSERTATIONS-DRUCKSTELLE
der Ernst-Reuter-Gesellschaft
der Förderer und Freunde
der Freien Universität Berlin e. V.
Pächter: Franz Augustin
1 Berlin 33, Garystr. 45

